Aus dem Pathologischen Institut der Universität
Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. E. Müller

Zur zytologischen und bioptisch-histologischen Diagnostik des Bronchialkarzinoms

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Heinrich Haug
aus Nürnberg

1964

1966 № 22

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet!

Dekan: Professor Dr. G. Theissing
Referent: Professor Dr. K. Elster
Correferent: Professor Dr. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Februar 1964

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK
LEIDEN

Acta histochem. Bd. 21, S. 268—275 (1965)

Nachdruck verboten

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. E. Müller)

Zur zytologischen und bioptisch-histologischen Diagnostik des Bronchialkarzinoms

Von H. Haug[1]) und K. Elster

Mit Tafel IX

(Eingegangen am 27. November 1964)

Neben der gynäkologischen Zytodiagnostik ist die der Thoraxkrankheiten heute am bedeutungsvollsten. Im Hinblick auf die ständige Zunahme der Bronchialkarzinome in den zivilisierten Ländern wurde das Bestreben, die Frühdiagnose zu verbessern, ein Erfordernis.

Zahlreiche Veröffentlichungen über die klinische Bedeutung des Bronchialkarzinoms weisen auf die Dringlichkeit der Verbesserung der Frühdiagnose hin. Bioptisch-histologische und zytologische Untersuchungen von Probeexzisionen bzw. Bronchialsekreten müssen mithin als wesentlicher Bestandteil in der Diagnostik des Bronchialkarzinoms angesehen werden. Über die Treffsicherheit der Methode ist zu diskutieren, der Möglichkeit ihrer Anwendung sollte man sich aber nicht entziehen.

Ausgangsmaterial für die zytologischen Untersuchungen sind in erster Linie Sputum und Bronchialsekret. Die Diskussion darüber, ob der Untersuchung von Sputum oder von Bronchialsekret der Vorzug zu geben sei, ist noch nicht abgeschlossen. Jedes Untersuchungsmaterial hat seine besonderen Vorzüge und Nachteile. Das *Bronchialsekret* wird stets frisch am Entstehungsort gewonnen und gestattet zudem bei gezielter Absaugung einen lokalisatorischen Rückschluß. Das *Sputum* hingegen hat den unschätzbaren Vorteil der leichten, beliebig oft wiederholbaren Gewinnung. Wenn hingegen die Indikation zu einer Bronchoskopie gestellt ist, schließt sich häufig an die endotracheale Beobachtung die gezielte Entnahme einer *Probeexzision* an, vorausgesetzt, daß die verdächtige Stelle zentral sitzt und mit dem Bronchoskop eingesehen werden kann.

Fragestellung und Methode

Im Interesse der Karzinomfrühdiagnose steht die Forderung, mit möglichst einfachen zytologischen Arbeitsmethoden zu verwertbaren Ergebnissen zu kommen. So ist es verständlich, daß zahlreiche Autoren verschiedene Verfahren angeben, die eine leichtere Erkennbarkeit von Ge-

1) D 29.

schwulstzellen ermöglichen sollen. Es ist jedoch bis heute noch nicht gelungen, eine Methode zu entwickeln, die in spezifischer Weise Tumorzellen darstellt. Mit diesem ungelösten Problem wird der Untersucher von Bronchialsekret oder Schleimhautexzisionen stets konfrontiert, wenn Komplexe dichtgelagerter dunkelkerniger Zellen vorliegen, die nicht sicher klassifizierbar sind. Differentialdiagnostisch ergeben sich dann folgende Möglichkeiten: kleinzelliges undifferenziertes Karzinom, Infiltration lymphoider Zellelemente oder Flachschnitt von Basalzellen des respiratorischen Epithels.

Diese Erwägungen führten zu der Fragestellung, ob durch färberische Eliminierung normaler Zellen per exclusionem tumorverdächtige Elemente darstellbar sind.

Im normalen Epithelsaum der Bronchien findet man schleimbildende Drüsen und Schleim enthaltende Flimmerepithelien. Es bietet sich an, diese normalen Zellen spezifisch durch die Darstellung der Schleimsubstanzen kenntlich zu machen. Dies gelingt mit der PAS-Reaktion (Perjodsäure-Schiff-Reaktion). Sie dient in der Histochemie dem Nachweis von Polysacchariden und Mucopolysacchariden (Literatur bei Gedigk [3]).

Die PAS-Reaktion kann an Paraffin- und Gefrierschnitten, sowie an Ausstrichen durchgeführt werden. Wir haben die Methode von Hotchkiss angewandt, unter Verwendung der Perjodsäurelösung B und des Schiffschen Reagens nach Graumann [4] (siehe Lipp [10]). Zur Gegenfärbung benutzten wir Hämalaun nach Mayer.

Um Besonderheiten feststellen zu können, die die PAS-Reaktion in der Zytodiagnostik der Lungenkrankheiten bieten könnte, haben wir dieses Verfahren der Routinefärbung mit Hämatoxylin-Eosin gegenübergestellt.

Ergebnisse des Vergleiches der Färbemethoden

Die verhältnismäßig blasse Hämatoxylin-Eosin-Färbung mit ihren ziemlich gleichförmigen Farbwerten im Rosabereich für das Zytoplasma und die Interzellularsubstanz färbt besonders die Chromatinstruktur der Zellkerne intensiv blauschwarz an. Auf Querschnitten durch das Flimmerepithel bietet sich, sofern die Architektur gewahrt ist, folgendes Bild: die pyramidenförmigen Basalzellen zeigen färberisch keine Besonderheiten. Die sich keulenförmig zur Oberfläche hin verjüngenden Becherzellen mit ihrem wabigen, lichten Zytoplasma und ihren basal liegenden Kernen können gut von den Flimmerepithelien mit ihren schmalen, senkrecht gestellten Kernen abgegrenzt werden. Die Schleimsubstanzen zeigen in der HE-Färbung keine Eigentümlichkeiten.

Die PAS-Reaktion mit Hämalaun-Gegenfärbung zeichnet das quergeschnittene Flimmerepithel in typischer Weise (Abb. 1).

Eine kräftig rote Basalmembran trennt die Epithellage deutlich von der Tunica propria. Die Basalzellen weisen ein blaß-rotes Zytoplasma auf. Die ganze Höhe des mehrreihigen Epithels zeigt sich als eine verschieden stark dunkelrot gefärbte Schicht von wabig-schaumiger Struktur. Dieses Band senkt sich teilweise in die Basalzellschicht ein und entspricht dem Zytoplasma der mittleren Zellen. Einzelne PAS-positive Fortsätze ziehen als Ausführungsgänge der Becherzellen zum oberflächlichen Schleimfilm. Das Zytoplasma der sich nach oben verbreiternden Flimmerepithelien ist zart rot angefärbt. Die oberflächliche Zellmembran stellt sich als eine

feine, dunkelrote Linie dar. Zum Lumen zu breitet sich über den Flimmerbesatz wiederum eine PAS-positive Schicht. Die Chromatinstruktur der Kerne wird durch die Gegenfärbung tiefblau angefärbt.

Dieses Ergebnis versprach, unserer Fragestellung entgegenzukommen.

Bezüglich der bisherigen Anwendung der PAS-Reaktion in der Zytologie der Thoraxkrankheiten fanden wir bei Grunze [5] (1955) diese Färbung nur im Zusammenhang mit dem Nachweis von Hypernephromzellen nach Lüdin erwähnt. Fawcett und Vallee [2] (1950, zit. n. Grunze), sowie Hornstein [7] (1954) untersuchten mit der PAS-Reaktion die Exsudate blastomatös-metastatischer Pleuritiden. Heckner und Strufe [6] berichteten 1956 bei ihren Erfahrungen im zytochemischen Polysaccharidnachweis mit Natriumperjodat und anschließender Versilberung auch über Bobachtungen bei der Untersuchung von Sputum und Probeexzisionen. Clemens [1] untersuchte mit der PAS-Reaktion und anderen Färbungen das Vorkommen, die Lokalisation und Bedeutung von sauren Mukopolysacchariden in der Lunge.

Die zuvor am Beispiel des Flimmerepithels aufgezeigten Besonderheiten nach der PAS-Färbung sind wertvolle Hilfsfaktoren bei der Analyse der Zellelemente. Kräftig rot-violett, also PAS-positiv, färben sich die Becherzellen, die Epithelien der Bronchialdrüsen sowie das Zytoplasma der mittleren Zellreihen. Die Basalmembran des Flimmerepithels sowie die Schleimschicht auf den Flimmerepithelien enthalten ebenso wie die glykogenreichen Muskelfasern PAS-positive Substanzen. Das nicht verhornende Plattenepithelkarzinom wie auch das wenig differenzierte vom Haferkorntyp ergeben stets eine negative PAS-Reaktion. Beim Plattenepithel ist jedoch zu beachten, daß insbesondere bei einer Verhornungstendenz an der Zellmembran ein zartrot gefärbter Randsaum nachweisbar ist. Bei fortschreitender Verhornung und Keratose schwindet dieser jedoch wieder. Losgelöste oder isoliert liegende Zellen mit PAS-positiven Substanzen im Ausstrich oder im eingebetteten Schnittpräparat sind mithin als normale Zellen der Bronchusschleimhaut anzusehen. Auf Flachschnitten durch Basalzellkomplexe des Flimmerepithels (Abb. 2) sind stets PAS-positiv gefärbte Zytoplasmaausläufer der mittleren Zellreihen erkennbar. Ein Zweifel über die Herkunft dieser dichtgelagerten Kerne der Basalzellen oder die Verwechslung mit einem kleinzelligen, undifferenzierten Karzinom oder lymphoidzelligen Elementen ist dann kaum möglich.

Querschnitte durch einen normalen Epithelsaum zeigen ein durch die PAS-Färbung hervorgehobenes typisches Bild. Metaplastische Veränderungen fallen sofort als Störung dieser farblichen Besonderheit auf.

Das infiltrierende Wachstum einer sonst vielleicht nur als Metaplasie gedeuteten Epithelveränderung ist in der Durchbrechung der mit Hilfe der PAS-Reaktion färberisch besonders hervorgehobenen Basalmembran unverkennbar.

Von komprimierten, tangential oder flach angeschnittenen Bronchialdrüsenschläuchen sind in der Tiefe gelegene Karzinomstränge eindeutig abgrenzbar (Abb. 3).

Die Beurteilung der Zellkerne wird durch die PAS-Reaktion nicht eingeschränkt, vielmehr ließ die von uns angewandte Hämalaun-Gegenfärbung die Chromatinstruktur des Kerns besonders hervorheben.

Trotz der vielfach klaren färberischen Ergebnisse darf nicht der Analogieschluß gezogen werden, daß eine PAS-positive Farbreaktion die Gutartigkeit einer Zelle gleichsam garantiere. Eine kritische Wertung ist insbesondere beim Verdacht des Vorliegens eines hochdifferenzierten Plattenepithelkarzinoms angezeigt. Ohne Zweifel bietet aber die PAS-Reaktion in der Zytodiagnostik des Bronchialkarzinoms erhebliche Vorteile gegenüber der HE-Routinefärbung. Diese kommen auch in den Ergebnissen unserer „Erprobung" zum Ausdruck.

Ergebnisse der praktischen Auswertung

Zur vergleichenden Untersuchung der zytologischen und histologischen Diagnostik des Bronchialkarzinoms mit Hilfe der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der PAS-Reaktion stand uns Material von 204 Einsendungen zur Verfügung. Da es stets unfixiert war, konnten von Sputum, Absaugung und Bronchialspülsekret nach makroskopischer Durchmusterung je zwei Ausstrichpräparate hergestellt werden, die in Ätheralkohol fixiert wurden. Das Restmaterial wurde nach Fällung und Fixation in Pikrinsäure in Paraffin eingebettet und in Stufen geschnitten. Das Exzisionsmaterial wurde mit dem enthaltenden Sekret ebenfalls in Pikrinsäure fixiert. Die PAS-Färbung wurde fast ausschließlich nur bei eingebettetem und geschnittenem Material angewendet.

Wir bemühten uns, zu den Einsendungen vollständige diagnostische Unterlagen und Katamnesen zu erhalten. Es sollte damit der Forderung von Kahlau [8] entsprochen werden, nur Kontrollfälle gelten zu lassen, bei denen durch Operation, Histologie oder Sektion eine katamnestisch einwandfreie Diagnose gestellt werden kann. Zur Vereinfachung der statistischen Betrachtung wurde von Einsendungen mit verschiedenen Materialien das jeweils „höchstwertige" repräsentativ für die anderen in die Statistik aufgenommen, so zum Beispiel von einer Einsendung mit Probeexzision und Spülung nur die Probeexzision, von Absaugung und Spülung nur die Absaugung. So kommt von allen Einsendungen nur ein Material zur Geltung, so daß das gesamte Untersuchungsmaterial in drei Gruppen aufgeteilt werden konnte, wie es aus Tabelle 1 hervorgeht. Das Material stammt von 159 Patienten mit klinischem Verdacht auf das Vorliegen eines Bronchialkarzinoms.

Tabelle 1 Untersuchungsmaterial

Sputum	71
Absaugung	54
Probeexzision	79
	204

Über die Anzahl der Untersuchungen bei unseren Patienten gibt die Tabelle 2 Aufschluß. Da bei einem Drittel der Patienten mehr als eine Untersuchung zur Klärung der Lungenerkrankung vorgenommen wurde und dabei auch häufig Präparate von verschiedenen Materialien beurteilt wurden, sind die Ergebnisse der Untersuchungen von Sputum, Absaugungen und Probeexzisionen in der folgenden Übersicht zusammengestellt (Tabelle 3—4). Die Befunde wurden getrennt für die HE-Färbung und die PAS-Reaktion erhoben und nach dem Fünfgruppenschema von Papanicolaou gestuft. In der statistischen Auswertung haben wir in Anlehnung an Kahlau [8] das Papanicolaou-Schema reduziert auf vier Gruppen (sicher, wahrscheinlich, verdächtig und negativ) und hierbei wiederum die sicheren und wahrscheinlichen Aussagen zu einer Gruppe zusammengefaßt. Somit resultieren

positive Befunde (Papanicolaou-Gruppen IV und V),
verdächtige Befunde (Papanicolaou-Gruppe III), und
negative Befunde (Papanicolaou-Gruppen I und II).

Tabelle 2

Zahl d. Patienten	Anzahl d. Untersuchungen
120	1
34	2
4	3
1	4
159	

Aus der zusammenfassenden Darstellung der Untersuchungsergebnisse von *katamnestisch kontrollierten Fällen* (in Tabelle 4a für die HE- und in Tabelle 4b für PAS-Färbung) geht hervor, daß von 54 gesicherten Bronchialkarzinomen mit der HE-Färbung 40, entsprechend 74%, erkannt wurden, hingegen 14 (26%) nicht diagnostiziert werden konnten. Mit der PAS-Färbung wurden 45 von 54 sicheren Bronchialkarzinomen, entsprechend 83%, sicher oder mit Wahrscheinlichkeit diagnostiziert. Die Zahl der nicht erfaßten Karzinome sank auf 17%.

In keinem der 80 kontrollierten und unkontrollierten Fälle ohne verifiziertes Karzinom in der Katamnese ergab die PAS-Färbung ein falsches Urteil, hingegen konnten mit der HE-Färbung nur in 74 von 80 Fällen (92%) die karzinomfreien Präparate richtig eingestuft werden.

Demgegenüber stehen einige Karzinome, die auch mit der PAS-Färbung zytologisch nicht diagnostiziert werden konnten. In einem Teil der Fälle kann man unzureichendes Material zumindest als Teilfaktor anschuldigen. Für diese Annahme sprechen die negativen Ergebnisse von Sputumuntersuchungen.

Tabelle 3a. Ergebnisse aller katamnestisch unkontrollierter Fälle[1]), Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Zahl der Fälle	Nach der Katamnese	Tumorzellen	Diagnosegruppe		Zahl	Summe	in %
90	Karzinom	gefunden	V	sicher	—	2	15,4
			IV	wahrscheinlich	2		
	13		III	verdächtig	5	5	38,5
		nicht	II	negativ	3	6	46,1
		gefunden	I		3		
	kein	gefunden	V	sicher	—	1	1,3
	Karzinom		IV	wahrscheinlich	1		
			III	verdächtig	5	5	6,5
	77	nicht	II	negativ	23	71	92,2
		gefunden	I		47		

Tabelle 3b. Ergebnisse aller katamnestisch unkontrollierter Fälle[1]), PAS-Färbung

90	Karzinom	gefunden	V	sicher	—	2	15,4
			IV	wahrscheinlich	2		
	13		III	verdächtig	3	3	23,1
		nicht	II	negativ	4	8	61,5
		gefunden	I		4		
	kein	gefunden	V	sicher	—	—	
	Karzinom		IV	wahrscheinlich	—		
	77		III	verdächtig	—	—	
		nicht	II	negativ	29	77	100
		gefunden	I		48		

Tabelle 4a. Ergebnisse aller katamnestisch kontrollierter Fälle, HE-Färbung

57	Karzinom	gefunden	V	sicher	25	40	74,1
			IV	wahrscheinlich	15		
	54		III	verdächtig	3	3	5,5
		nicht	II	negativ	6	11	20,4
		gefunden	I		5		
	kein	gefunden	V	sicher	—	—	
	Karzinom		IV	wahrscheinlich	—		
	3		III	verdächtig	—	—	
		nicht	II	negativ	3	3	100
		gefunden	I		—		

Tabelle 4b. Ergebnisse aller katamnestisch kontrollierter Fälle, PAS-Färbung

57	Karzinom	gefunden	V	sicher	32	45	83,3
			IV	wahrscheinlich	13		
	54		III	verdächtig	3	3	5,6
		nicht	II	negativ	2	6	11,1
		gefunden	I		4		
	kein	gefunden	V	sicher	—	—	
	Karzinom		IV	wahrscheinlich	—		
	3		III	verdächtig	—	—	
		nicht	II	negativ	2	3	100
		gefunden	I		1		

1) Fälle ohne zytologische und histologische Sicherung.

Diskussion

Das zytologische und histologische Untersuchungsmaterial der Luftwege ist reich an mucopolysaccharidhaltigen Substanzen, die sich für eine Selektivfärbung anbieten. In der PAS-Reaktion steht uns eine Färbung zum spezifischen Polysaccharidnachweis zur Verfügung. Sie gestattet, die sich mit dem Schiffschen Reagens verbindenden und kräftig rot anfärbenden Zellen und Substrate als solche zu bezeichnen, die dem normalen Schleimhautepithel der Luftwege zugehören oder dessen Sekrete sind. Die Zellen der Bronchialkarzinome weisen, abgesehen von den seltenen Adenokarzinomen, im allgemeinen keine Verschleimungstendenz auf. Die Ergebnisse der vergleichenden Untersuchungen sollten uns ermutigen, den Aufwand einer zusätzlichen Färbemethode nicht zu scheuen. Für die Wertung gilt jedoch, wie bei allen anderen Färbemethoden, der Grundsatz von Kahlau [9]: „Die Diagnostik von Tumorzellen ist keine färberische, sondern eine morphologische."

Ergebnisse

Anhand vergleichender Untersuchungen über die Treffsicherheit zytodiagnostischer Aussagen beim Bronchialkarzinom mittels der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der Perjodsäure-Schiff-Reaktion werden die Vorteile der PAS-Färbung aufgezeigt. Sie erlaubt, mit gewissen Einschränkungen, die Abgrenzung der poly- und mucopolysaccharidreichen normalen Epithelien der Bronchialschleimhaut von den karzinomatös entarteten Strukturen, die dem Untersucher so per exclusionem dargestellt werden.

Mit der kombinierten zytologischen und histologischen Technik von Sputen, Absaugungen und Probeexzisionen, wurden von 54 gesicherten Fällen mit Bronchialkarzinom mit der HE-Färbung 40, entsprechend 74 %, sicher und wahrscheinlich diagnostiziert, mit der PAS-Reaktion hingegen 45 Fälle, entsprechend 83 %.

Nicht nur die Unterschiede in den diagnostischen Ergebnissen, sondern die Hervorhebung morphologischer Strukturbesonderheiten bei den normalen Epithelien des Bronchialbaumes, die als Hilfsfaktoren die Beurteilung histologischer und zytologischer Präparate erheblich erleichtern, lassen die PAS-Reaktionen gegenüber der HE-Färbung vorteilhafter erscheinen.

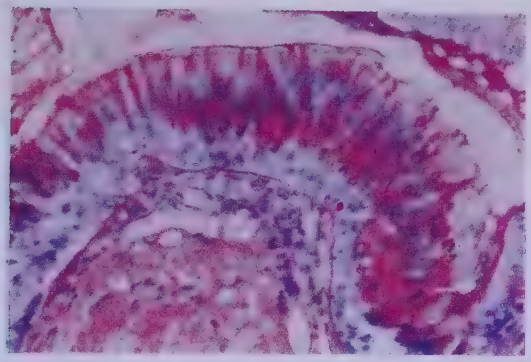
Dennoch ist die PAS-Reaktion keine spezifische Farbreaktion zum Ausschluß von Zellen bösartiger Lungentumoren. Die Diagnosestellung erfordert nach wie vor morphologische Kenntnisse der Histologie und Zytologie.

Zusammenfassung

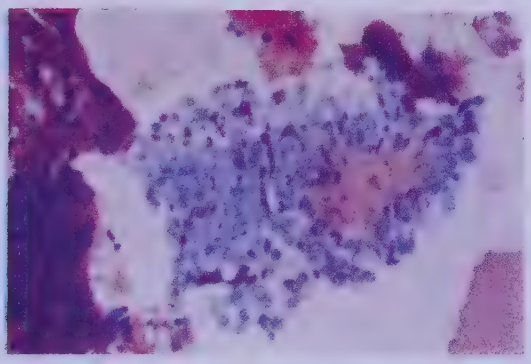
Mit der PAS-Färbung (Perjodsäure-Schiff-Reaktion) lassen sich bessere Ergebnisse bei histologischer und zytologischer Untersuchung zur Diagnostik des Bronchialkarzinoms erzielen. Die positive PAS-Reaktion von normalen Epithelien der Bronchusschleimhaut bewirkt per exclusionem eine Verminderung der Zahl geschwulstverdächtiger Zellen. Beim Vergleich mit den Ergebnissen der Routine-Färbung (74 % gesicherte positive Befunde) lag die Trefferquote bei PAS-Färbung mit 83 % höher.

Выводы

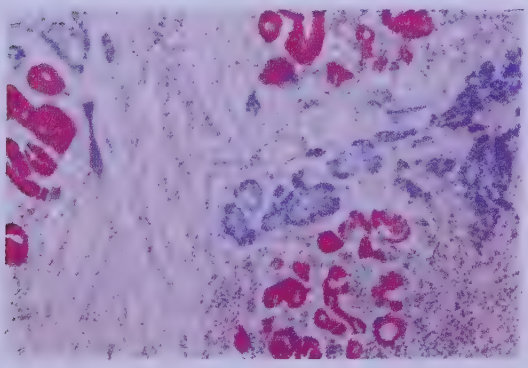
При помощи PAS-окрашивания (реакция с йодной кислотой по Шиффу) можно получить лучшие результаты гистологического и цитологического исследований с целью распознавания рака бронхов. Положительная PAS-реакция нормальных эпителиев слизистой оболочки бронха приводит per exclusionem к уменьшению количества подозрительных на опухоль клеток. Сравнение результатов «рутинного» окрашивания (74 % положительных результатов) с результатами PAS-окрашивания показало, что последние составляют 83 %.



1



2



3

Summary

By means of PAS staining (periodic acid- SCHIFF's reaction) better results can be attained in histological and cytologic investigations into the diagnostics of bronchial carcinoma. Positive PAS reaction of normal epithelium of the bronchus mucosa causes per exclusionem a diminution of the number of cells suspected of tumour. As compared with the results of routine staining (74% of safe positive findings) the safety rate was higher (83%) with PAS staining.

Résumé

La coloration au PAS (réaction à l'acide periodique — Schiff) permet d'obtenir de meilleurs résultats dans l'étude histologique et cytologique pour le diagnostic du cancer bronchique. La réaction PAS-positive de l'épithélium normal de la muqueuse bronchique réduit par exclusion le nombre des cellules suspectes de tumeur. Comparé aux résultats de la coloration de routine (74% de résultats positifs sûrs), le taux des résultats sûrs était de 83% en cas de coloration au PAS.

Literatur

1. Clemens, H.-J., Vorkommen, Lokalisation und Bedeutung von sauren Mucopolysacchariden in der Lunge. Acta histochem. **2**, 170—195 (1956).
2. Fawcett, D. W., and Vallee, B. L., Some new approaches to the Cytologic Diagnosis of cancer from serous fluids. Bull. New Engl. Med. Cent, **12**, 224—228 (1950) [zit. nach Grunze].
3. Gedigk, P., Histochemische Darstellung von Kohlenhydraten. Klin. Wschr. **30**, 1057—1065 (1952).
4. Graumann, W., Zur Standardisierung des Schiffschen Reagenz. Z. wiss. Mikrosk. **61**, 225—226 (1953) [zit. nach Lipp].
5. Grunze, H., Klinische Cytologie der Thoraxkrankheiten. Stuttgart: Enke 1955.
6. Heckner, F., und Strufe, R., Cytochemischer Polysaccharidnachweis mit Natriumperjodat. Klin. Wschr. **34**, 326—329 (1956).
7. Hornstein, O., Zur zytologischen Tumordiagnostik: Untersuchung von Sedimenten aus Ergüssen der Körperhöhlen. Dtsch. med. Wschr. **79**, 360—363 (1954).
8. Kahlau, G., Zur zytologischen Diagnostik des Bronchialkarzinoms aus dem Sputum. Verh. Dtsch. Ges. Path. **35**, 162—169 (1952).
9. — Über cytologische Untersuchungen von Expectoraten und Punktionsflüssigkeiten mittels der Methode von L. Silverstolpe. Klin. Wschr. **28**, 574—577 (1950).
10. Lipp, W., Histochemische Methoden. Hefte I und IX Oldenbourg München: seit 1954 lfd.

Tafelerklärung

Tafel IX

Abb. 1. Flimmerepithel quergeschnitten, PAS-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer. 200 : 1.

Abb. 2. Flimmerepithel, Flachschnitt, PAS-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun nach Mayer. 200 : 1.

Abb. 3. Karzinomstränge und Bronchialdrüsen, PAS-Reaktion, Nachfärbung mit Hämalaun nach Mayer. 80 : 1.

Anschrift der Verfasser: Dr. H. Haug und Prof. Dr. K. Elster, 8520 Erlangen, Pathologisches Institut.

Acta histochem. Bd. 21, S. 276—283 (1965)

Nachdruck verboten

Aus der 2. Abteilung der Inneren Medizin der Universität Osaka
(Direktor: Prof. Dr. M. Nishikawa)

Über die Darstellungsmethode des Zinks im Gewebe und ihren Mechanismus

Von Tetsuo Yoshinaga, Yoshitake Shinji, Toru Katayama u. Yasuo Yamamoto[1])

Mit 2 Abbildungen im Text und Tafel X
(Eingegangen am 28. November 1964)

Einleitung

Seit der erstmaligen Darstellung des Zinks in den Langerhansschen Inseln durch Okamoto (6) wurde der Sinn der Existenz des Zinks in vielen Arbeiten untersucht (8, 13). Gewöhnlich wird die Vitalfärbungsmethode mit Ammoniaklösung von Dithizon als die Darstellungsmethode des Zinks gebraucht (4, 15). Timm hat den H_2S gesättigten Alkohol für die Fixierung des Metalls im Gewebe gebraucht und es mit der Magnesiumdithizonatmethode dargestellt (10, 11). Voigt (14) hat diese Fixierungsmethode und seine eigene Versilberungsmethode miteinander kombiniert gebraucht und es deutlich dargestellt. Timm (12) hat ferner das mit H_2S gesättigtem Alkohol fixierte Gewebe zu Asche gebrannt und dann mit Magnesiumdithizonatmethode das Zink dargestellt (1). In unserer letzten Arbeit (17) haben wir über eine verbesserte Darstellungsmethode für das Zink im Gewebe berichtet. Diese Methode ist nämlich folgendermaßen:

Kleine Stücke des Pankreas (etwa 5 mm × 5 mm × 5 mm) werden mit H_2S gesättigtem 70%igem Alkohol bei 4 °C 3—5 Stunden lang fixiert. Nach kurzem Spülen mit 70%igem Alkohol wird das mit ansteigendem Alkohol entwässert und in Paraffin eingebettet. Der 5—15 μm dicke Paraffinschnitt wird mit Xylol entparaffiniert und dann für 2 Stunden in der folgenden Lösung bei 60 °C eingestellt. Nach der Färbung wird das Präparat mit warmem Wasser abgespült und dann mit warmer Glyceringelatine eingeschlossen. Das Zink wird purpurrot dargestellt.
Die Herstellung der Färbungslösung:

Man löst 200 mg Dithizon in 1 m*l* Ammoniak (28%) und füllt es mit dest. Wasser auf 10 m*l* auf. Die Lösung ist dann bei 70 °C 10 Min. lang zu wärmen, und bei der Färbung werden 2 m*l* ihres Filtrates mit dest. Wasser auf 100 m*l* aufgefüllt.

1) Aus der Abteilung der Anorganischen Chemie der Universität Osaka.

LEBENSLAUF

Am 8. September 1939 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Ulrich Haug und seiner Frau Brigitte, geborene Breßau, in Crailsheim geboren. Dort besuchte ich ab Herbst 1945 die Volksschule und von 1949 bis 1952 die Oberschule. Anschließend trat ich in Eßlingen in das Georgii-Gymnasium ein, wo ich am 4. März 1958 die Reifeprüfung ablegte.

An der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen begann ich im Sommersemester 1958 das Studium der Medizin, absolvierte die naturwissenschaftliche Vorprüfung im Frühjahr 1959 und beschloß im Herbst 1960 das vorklinische Studium mit der ärztlichen Vorprüfung. In Tübingen setzte ich meine Studien auch noch im ersten klinischen Semester fort. Im Sommersemester 1961 studierte ich an der Leopold-Franzens-Universität in Innsbruck. Im folgenden Wintersemester 1961/1962 immatrikulierte ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg und legte dort im Wintersemester 1963/64 das ärztliche Staatsexamen ab.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich Herrn Professor Dr. E. Müller, der mir die Möglichkeit gab, zwei Jahre lang am Pathologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg zu arbeiten.

Herrn Professor Dr. K. Elster danke ich herzlich für seine Mühe bei der Durchsicht der Präparate und seine Bereitschaft, mir trotz eigener umfangreicher Pflichten jederzeit Rat und Hilfe gewährt zu haben.